

# Nghiên cứu xây dựng bộ mẫu ngoại kiểm cho xét nghiệm huyết thanh học đồng thời HBsAg và anti-HCV

Lê Trần Bảo Uyên<sup>1</sup>, Trần Tôn<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Minh Thuận<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

<sup>2</sup> Viện Pasteur TP. Hồ Chí Minh

## Summary

*External Quality Assessment (EQA) is one of the methods that provide quality assurance and quality enhancement in the progress of test result synchronization. The aim of this study was to establish EQA samples for the proficiency dual HBsAg and anti-HCV serological testing complied with the specification of homogeneity and stability. Each panel contained 12 coded samples including three negative, three positive for HBsAg, three positive for anti-HCV, three positive for dual HBsAg and anti-HCV evaluated stability, homogeneity and sterile. The results showed that the samples in panel met homogeneity ( $p > 0.05$ ) and sterile, samples were stable for 14 days at  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  and at least 60 days after storage at  $2-8^\circ\text{C}$ , those also were stable in transportation condition. The EQA samples for dual HBsAg and anti-HCV serological test was developed in order to use widely in the proficiency test for testing laboratories in Vietnam.*

**Keywords:** External quality assessment; dual HBsAg and anti-HCV, panel.

## Đặt vấn đề

Viêm gan là vấn đề sức khỏe trên toàn cầu và là nguyên nhân gây suy giảm chức năng gan. Viêm gan B và viêm gan C có nhiều đặc điểm tương đồng bao gồm khả năng lây nhiễm đáng kể trên toàn cầu, các phương thức lây truyền bệnh. HBsAg và anti-HCV là xét nghiệm sàng lọc đầu tiên đối với viêm gan B và viêm gan C<sup>[1, 2]</sup>. Độ chính xác, độ tin cậy là vấn đề quan trọng trong công tác sàng lọc, định hướng tiếp cận chăm sóc y tế. Tham gia chương trình ngoại kiểm góp phần đảm bảo độ tin cậy đối với kết quả phân tích giữa các phòng xét nghiệm (PXN), từng bước hướng đến việc liên thông và công nhận kết quả xét nghiệm, cung cấp bằng chứng khách quan về năng lực của phòng xét nghiệm. Tại Việt Nam chưa có đơn vị nào cung cấp

chương trình ngoại kiểm đồng thời HBsAg và anti-HCV bằng bộ mẫu tự sản xuất, nên việc khuyến khích tất cả các phòng xét nghiệm tham gia ngoại kiểm gặp nhiều khó khăn về kinh phí và cung cấp mẫu. Mục tiêu của đề tài là nghiên cứu sản xuất bộ mẫu ngoại kiểm (bộ panel) cho xét nghiệm huyết thanh học đồng thời HBsAg và anti-HCV đạt các yêu cầu về độ đồng nhất và độ ổn định theo tiêu chuẩn ISO Guide 35 và ISO 13528.

## Nguyên liệu và phương pháp

### Nguyên liệu

#### Mẫu huyết tương

Các túi huyết tương được cung cấp từ Bệnh viện Truyền máu Huyết học TP. Hồ Chí Minh, đã được sàng lọc âm tính với kháng thể HIV 1/2, kháng thể kháng HLTV 1/2 và kháng thể kháng giang mai. Mẫu được lưu trữ ở nhiệt độ  $-20^\circ\text{C}$ .

#### Hóa chất - trang thiết bị

Các sinh phẩm Elecsys HBsAg II (Hãng Roche), Architect HBsAg Qualitative (Hãng Abbott), Advia Centaur XP (Hãng Siemens) dùng cho xét nghiệm (XN) HBsAg; các sinh phẩm Elecsys anti-HCV II (Hãng Roche),

Chịu trách nhiệm: Nguyễn Thị Minh Thuận

Email: ntmthuan@ump.edu.vn

Ngày nhận: 07/3/2021

Ngày phản biện: 31/3/2021

Ngày duyệt bài: 20/4/2021

Architect anti-HCV (Hãng Abbott), ADVIA Centaur HCV (Hãng Siemens) dùng cho xét nghiệm anti-HCV; Bộ kit Elecsys khẳng định HBsAg (Hãng Roche); Bộ kit khẳng định anti-HCV InnoLia™ HCV score (hãng Fujirebio); thrombin (Hãng Sigma – Mỹ); proclin™ 300 (Hãng Supelco – Mỹ). Các hệ thống máy xét nghiệm tự động cho HBsAg và anti-HCV gồm E411 Cobas (Hãng Roche), Architect (Hãng Abbott) và Centaur XPT (Hãng Siemens).

#### **Phương pháp nghiên cứu**

##### **Xác định đặc tính mẫu, chọn mẫu**

*Xác định đặc tính mẫu:* Mẫu sau khi thu thập sẽ được xét nghiệm lại để xác định lại đặc tính mẫu bằng 3 hệ thống xét nghiệm (được công nhận IVD cho chẩn đoán) tại Viện Pasteur TP. Hồ Chí Minh là Cobas - Roche, Architect - Abbott và Centaur XPT - Siemens. Kết quả xác định: Dương tính khi tỷ lệ S/CO (Signal/Cut-off: Tín hiệu mẫu/giá trị ngưỡng) của mẫu thử  $\geq 1$ ; âm tính khi S/CO  $< 1$  [3,4].

*Chọn mẫu:* Mẫu huyết tương dương tính HBsAg là mẫu đồng thời cho kết quả HBsAg dương tính với 3 loại sinh phẩm Elecsys HBsAg II, Architect HBsAg Qualitative, ADIVA Centaur HBsAg; Mẫu huyết tương dương tính anti-HCV là mẫu đồng thời cho kết quả anti-HCV dương tính với 3 loại sinh phẩm Elecsys Anti-HCV II, Architect anti-HCV, ADIVA Centaur HCV; Mẫu huyết tương dương tính đồng thời HBsAg và anti-HCV là mẫu đồng thời cho kết quả HBsAg dương tính và anti-HCV dương tính với các sinh phẩm xét nghiệm trên 3 hệ thống máy; Mẫu huyết tương âm tính là mẫu cho kết quả âm tính với các yếu tố HBsAg, anti-HCV với các sinh phẩm xét nghiệm trên 3 hệ thống máy. Các mẫu huyết tương này không có màu đỏ (bị tán huyết) và đông vón về mặt cảm quan.

##### **Chuyển đổi huyết tương thành huyết thanh**

Quy trình chuyển đổi huyết tương thành huyết thanh được thực hiện tương tự như nghiên cứu trước đó [5]. Các huyết tương sẽ được chuyển đổi thành huyết thanh bằng phương pháp thrombin hóa và được bảo quản bằng Proclin™ 0,05%. Đặc tính mẫu trong dịch huyết thanh thu được sẽ được kiểm tra lại bằng 3 hệ thống máy xét nghiệm tự động. Các mẫu huyết thanh dương tính HBsAg được

khẳng định bằng sinh phẩm Elecsys HBsAg Confirmatory Test, mẫu huyết thanh có kết quả anti-HCV dương tính được khẳng định bằng sinh phẩm Inno-Lia™ HCV score - Fujirebio trước khi phân phối mẫu và gửi cho các phòng xét nghiệm [6].

##### **Đánh giá độ đồng nhất mẫu**

Các mẫu huyết thanh đã được đánh giá đặc tính mẫu sẽ được cho mã số và chia vào từng ống cryotube 2 ml với thể tích 0,5 ml. Với mỗi mã số mẫu, chọn ngẫu nhiên 10 ống (thời điểm  $T_0$ ), mỗi ống mẫu được đánh bằng xét nghiệm HBsAg và anti-HCV, mỗi xét nghiệm lặp lại 2 lần trên hệ thống Cobas-Roche. Giá trị S/CO sau 2 lần xét nghiệm được đưa vào phân tích ANOVA 1 yếu tố để đánh giá độ đồng nhất giữa các cryotube [7,9].

##### **Đánh giá độ ổn định bộ mẫu ở điều kiện vận chuyển, nhiệt độ phòng và nhiệt độ bảo quản 2 - 8 °C**

Dựa theo tiêu chuẩn ISO/IEC 17043:2010 và TCVN 8245 [8,9], chọn ngẫu nhiên 10 bộ mẫu được hoàn chuyển về từ các PXN. So sánh kết quả trung bình giá trị S/CO của nhóm mẫu vận chuyển với nhóm mẫu ở thời điểm  $T_0$  khác nhau có ý nghĩa thống kê hay không. Ngoài ra, các bộ panel được theo dõi ổn định ở nhiệt độ phòng trong 14 ngày và ở điều kiện bảo quản ở 2 – 8 °C sau 60 ngày, so với nhóm mẫu ở thời điểm  $T_0$  khác nhau có ý nghĩa thống kê hay không. Mẫu được đánh giá ổn định cao khi độ phân tán của kết quả (CV%)  $< 10\%$  và đặc tính âm, dương không thay đổi giữa các lần chạy.

##### **Đánh giá tính vô khuẩn của mẫu**

Chọn ngẫu nhiên 5 bộ mẫu kiểm tra độ vô khuẩn [10]. Cấy hàng rào trải đều mẫu trên mặt thạch Mueller Hinton và thạch Sabouraud. Sau đó mang các đĩa thạch Mueller Hinton ủ trong tủ ẩm ở điều kiện 5% CO<sub>2</sub> /37 °C /24 giờ và để các đĩa thạch Sabouraud ở nhiệt độ phòng 25 °C trong 5 ngày. Kiểm tra sự phát triển của vi khuẩn, vi nấm trên mặt thạch sau thời gian ủ.

##### **Thiết kế bộ panel thử nghiệm và đánh giá chất lượng bộ mẫu**

Bộ panel thiết kế ban đầu gồm 12 mẫu, mỗi mẫu chứa trong cryotube 2 ml với 0,5 ml huyết thanh bao gồm các mẫu: 3 mẫu âm tính, 3 mẫu dương tính HBsAg, 3 mẫu dương tính anti-HCV và 3 mẫu dương tính đồng thời HBsAg và

anti-HCV. Các bộ panel này được đánh giá độ đồng nhất và độ ổn định theo tiêu chuẩn ISO Guide 35 và ISO 13528 [7, 9]. Sau đó, 20 bộ panel được gửi cho các PXN thuộc khu vực phía Nam sử dụng hệ thống miễn dịch tự động để thực hiện xét nghiệm HBsAg và anti-HCV. Kết quả đánh giá của các đơn vị cho biết chất lượng mẫu sản xuất.

#### Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Excel 2010 theo tiêu chuẩn ISO 13528 [7]. Kết quả được trình bày dưới dạng trung bình  $\pm$  SD (độ lệch chuẩn). Dùng phép kiểm ANOVA 1 yếu tố để đánh giá độ đồng nhất mẫu. Dùng hàm t-test để so sánh hai nhóm giá trị trung bình. Sự khác biệt được xem có ý nghĩa khi  $p < 0,05$ .

**Đạo đức nghiên cứu:** Nghiên cứu này đã được thông qua theo Quyết định số 422/ĐHYD – HĐĐĐ của Hội đồng Đạo đức Trường Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh.

#### Kết quả

##### Kết quả xử lý mẫu huyết tương thành huyết thanh

Mẫu huyết tương sau khi xử lý bằng phương pháp thrombin hóa có màu vàng, trong suốt. Kết quả kiểm tra lại cho thấy đặc tính mẫu không thay đổi sau các bước xử lý mẫu với thrombin và thêm proclin<sup>TM</sup> 300; 0,05%.

**Bảng 2. Kết quả phân tích thống kê độ đồng nhất của các mẫu**

	HBC-01	HBC-02	HBC-03	HBC-04	HBC-05	HBC-06	HBC-07	HBC-08	HBC-09	HBC-10	HBC-11	HBC-12
$p^*$ (HBsAg)	0,35	0,95	0,75	1,00	1,00	0,98	1,00	1,00	0,41	1,00	1,00	0,89
$p^*$ (anti-HCV)	0,94	0,62	0,48	0,45	0,91	0,94	1,00	0,9	0,66	1,00	0,72	1,00

$p^*$ : phép kiểm ANOVA 1 yếu tố

##### Kết quả đánh giá độ ổn định

**Độ ổn định bộ mẫu ở điều kiện vận chuyển:** Dùng phép kiểm t-test so sánh giá trị S/CO trung bình của các mẫu ở thời điểm ban đầu và ở điều kiện vận chuyển cho thấy điều kiện vận chuyển khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với ban đầu ( $p > 0,05$ ). CV% của tất cả các mẫu đều nhỏ hơn 10% và đặc tính HBsAg và anti-HCV

##### Xây dựng bộ mẫu chuẩn

12 mẫu cryotube đã được mã hóa và đánh giá đặc tính mẫu được chọn để thiết kế bộ mẫu chuẩn (bộ panel) (bảng 1).

**Bảng 1. Các đặc tính mẫu trong bộ panel**

Mẫu trong bộ panel	Đặc tính HBsAg	Đặc tính anti-HCV
HBC-01	HBsAg (-)	anti-HCV (-)
HBC-02	HBsAg (+)	anti-HCV (-)
HBC-03	HBsAg (+)	anti-HCV (+)
HBC-04	HBsAg (-)	anti-HCV (-)
HBC-05	HBsAg (-)	anti-HCV (+)
HBC-06	HBsAg (+)	anti-HCV (-)
HBC-07	HBsAg (-)	anti-HCV (+)
HBC-08	HBsAg (-)	anti-HCV (-)
HBC-09	HBsAg (+)	anti-HCV (-)
HBC-10	HBsAg (-)	anti-HCV (+)
HBC-11	HBsAg (+)	anti-HCV (+)
HBC-12	HBsAg (+)	anti-HCV (+)

(-): Âm tính (+): Dương tính

##### Kết quả đánh giá độ đồng nhất

Phân tích bằng phép kiểm ANOVA 1 yếu tố cho thấy kết quả xét nghiệm trên 10 ống có cùng mã số được lấy ngẫu nhiên từ 10 bộ panel khác nhau không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) (bảng 2). Vì vậy, các mẫu đồng nhất với nhau.

của tất cả các mẫu không thay đổi (bảng 3).

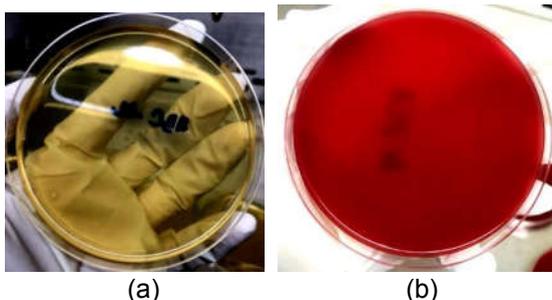
**Độ ổn định bộ mẫu ở điều kiện nhiệt độ phòng và nhiệt độ bảo quản 2 - 8 °C:** Các bộ panel mẫu được để ở nhiệt độ phòng đến 14 ngày và ở nhiệt độ bảo quản 2 - 8 °C đến 60 ngày vẫn chưa thấy có sự khác biệt về đặc tính mẫu so với thời điểm mẫu được sản xuất ( $T_0$ ).

**Bảng 3. Độ ổn định ở điều kiện vận chuyển**

	HBC-01	HBC-02	HBC-03	HBC-04	HBC-05	HBC-06	HBC-07	HBC-08	HBC-09	HBC-10	HBC-11	HBC-12
<b>P*</b> (HBsAg)	0,89	0,27	0,45	0,89	0,54	0,16	0,21	0,48	0,63	0,76	0,06	0,62
<b>CV%</b> (HBsAg)	3,33	2,00	8,45	7,90	4,28	3,34	4,24	6,58	9,71	4,68	2,76	1,65
<b>P</b> (anti-HCV)	0,88	0,34	0,77	0,37	0,17	0,57	0,07	0,19	0,46	0,17	0,26	0,17
<b>CV%</b> (anti-HCV)	8,33	1,14	8,13	2,28	3,58	2,48	0,93	1,58	2,20	1,02	1,41	1,52

### Kết quả đánh giá độ vô khuẩn

Sau thời gian ủ quy định, kết quả kiểm tra trên mặt đĩa thạch sabouraud và thạch MH đều không xuất hiện các khóm vi sinh vật, chứng tỏ bộ panel đạt độ vô khuẩn (hình 1).



**Hình 1. Mẫu huyết thanh (a) không có vi nấm mọc trên thạch Sabouraud và (b) không có khóm vi khuẩn mọc trên thạch máu MH**

### Kết quả đánh giá chất lượng bộ mẫu

Các ống cryotube 2 ml đựng mẫu huyết thanh trong bộ panel được vận chạt nắp, đóng gói 3 lớp cẩn thận kèm tờ hướng dẫn sử dụng và gửi đến 20 đơn vị đã đăng ký tham gia để đánh giá đặc tính mẫu. Hai mươi đơn vị này sử dụng các hệ thống máy miễn dịch tự động. Kết quả nhận được cho thấy có 10 đơn vị sử dụng máy Cobas-Roche, 8 đơn vị sử dụng sinh phẩm Architect-Abbott, 2 đơn vị còn lại sử dụng sinh phẩm của Centaur-Simens và Alinity-Abbott. Tất cả 20 đơn vị đều cho kết quả đánh giá đặc tính mẫu tương đồng với kết quả của nhóm nghiên cứu. Vì vậy bộ mẫu thử nghiệm đạt yêu cầu để sử dụng trong chương trình thử nghiệm thành thạo.

### Bàn luận

Xét nghiệm tìm HBsAg và anti-HCV hiện nay có thể thực hiện trên cả mẫu huyết thanh và huyết tương. Tuy nhiên, nhược điểm của mẫu huyết tương là dễ tạo tủa vón và có thể ảnh hưởng đến kết quả phân tích mẫu [5]. Vì vậy, chúng tôi đã thu thập các túi huyết tương đông lạnh từ Bệnh viện Truyền máu - Huyết học TP. Hồ Chí Minh. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phương pháp pha loãng mẫu do thực tế sẽ rất khó khăn để tìm được mẫu có nồng độ thấp, đồng thời hiện tại nhu cầu tham gia ngoại kiểm huyết thanh học của các phòng xét nghiệm rất lớn, vì vậy việc pha loãng giúp chủ động trong việc tìm được đặc tính mẫu mong muốn và cung cấp đủ thể tích mẫu [11]. Kết quả đánh giá độ đồng nhất và độ ổn định mẫu cho thấy các mẫu pha loãng vẫn đạt chất lượng theo quy định của bộ mẫu ngoại kiểm.

Về số lượng mẫu của bộ panel, nghiên cứu đã xây dựng bộ panel gồm 12 mẫu có đầy đủ các đặc tính âm tính, dương tính với HBsAg và anti-HCV. Số lượng mẫu trong bộ panel thiết kế cũng phù hợp với nghiên cứu trước đó của G. Pisani [12]. Tùy vào tiêu chí đánh giá, mỗi bộ mẫu chuẩn cho từng chương trình ngoại kiểm có các yêu cầu khác nhau, tuy nhiên mẫu ngoại kiểm có yêu cầu chung phải đạt độ đồng nhất và độ ổn định theo tiêu chuẩn ISO Guide 35 và ISO 13528. Các mẫu huyết thanh trong bộ panel của nghiên cứu này đã đạt các yêu cầu chất lượng về độ đồng nhất, độ vô khuẩn, độ ổn định ở điều kiện vận chuyển và các điều kiện nhiệt độ khảo sát so với thời điểm ban đầu  $T_0$ .

## Kết luận

Nghiên cứu này đã xây dựng thành công bộ panel với 12 mẫu gồm các đặc tính sau: 3 mẫu âm tính, 3 mẫu dương tính HBsAg, 3 mẫu dương tính anti-HCV, 3 mẫu nhiễm đồng thời HBsAg và anti-HCV đạt các tiêu chí chất lượng mẫu về độ ổn định, độ đồng nhất và độ vô khuẩn. Bộ mẫu này có thể được sử dụng rộng rãi cho các chương trình thử nghiệm thành thạo xét nghiệm huyết thanh học đồng thời HBsAg và anti-HCV trong cả nước với chi phí hợp lý.

*Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ TP. Hồ Chí Minh (thuộc Sở KH & CN TP. Hồ Chí Minh).*

## Tài liệu tham khảo

1. Caccamo G., Saffioti F., Raimondo G. (2014), "Hepatitis B virus and hepatitis C virus dual infection", *World gastroenterol*, 20 (40), pp. 14559-14567.
2. WHO (2017), Guidelines on hepatitis B and C testing.
3. Louisirirothanakul S., Khupulsup K., Akraekthalin S. et al. (2010), "Comparison of the Elecsys HBsAg II assay with the Architect, AxSym, and Advia Centaur HBsAg screening assays", *J. Med. Virol.*, 82 (5), pp. 755-762.
4. Wursthorn K., Jaroszewicz J., Zacher B. J. et al. (2011), "Correlation between the Elecsys HBsAg II assay and the Architect assay for the quantification of hepatitis B surface antigen (HBsAg) in the serum", *J. Clin. Virol.*, 50 (4), pp. 292-306.
5. Phùng Thị Hoàng Nhi, Trần Tôn, Lê Duy Hoàng Chương, Nguyễn Thị Minh Thuận (2020), "Xây dựng bộ mẫu ngoại kiểm cho xét nghiệm huyết thanh học định tính HBsAg", *Tạp chí Dược học*, 532 (60), tr. 27-31.
6. Inno-lia HCV<sup>TM</sup> Score, [https://search.cosmobio.co.jp/cosmo\\_search\\_p/search\\_gate2/docs/IGT\\_/80538.20110309.pdf](https://search.cosmobio.co.jp/cosmo_search_p/search_gate2/docs/IGT_/80538.20110309.pdf), received on 4 March 2021.
7. ISO 13528:2015, Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison.
8. TCVN ISO/IEC 17043:2011, Đánh giá sự phù hợp - yêu cầu chung đối với thử nghiệm thành thạo.
9. TCVN 8245 : 2009 (ISO guide 35 : 2006), Mẫu chuẩn – nguyên tắc chung và nguyên tắc thống kê trong chứng nhận.
10. Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V*, NXB Y học, PL-312-315.
11. WHO (2016). WHO manual for organizing a national external quality assessment programme for health laboratories and other testing sites.
12. Pisani G, Marino F, Cristiano K. et al. (2008), "External quality assessment for the detection of HCV RNA, HIV RNA and HBV DNA in plasma by nucleic acid amplification technology: a novel approach", *Vox Sang.*, 95 (1), pp. 8-12.

# Tổng hợp và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của một số dẫn chất benzimidazol

Trương Phương\*, Nguyễn Ngọc Đan Thùy, Đặng Hoàng Minh  
Lê Hoàng Phượng Linh, Phạm Đức Huy  
Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

## Summary

*Benzimidazole derivatives are present in many groups of drugs such as antidiabetic drugs, cancer, viral, malaria, cardiovascular, neurological, endocrine, ophthalmic disease and especially antimicrobial activity. In this research, benzimidazole derivatives with substituents at position five and alkyl derivatives were investigated the antibacterial and antifungal activity of synthetic substances.*

**Key words:** Benzimidazol, benzimidazol derivatives, alkyl derivatives.

## Đặt vấn đề

Benzimidazol được coi là một nhóm thuốc đầy hứa hẹn của các hợp chất dị vòng được tạo thành bởi imidazol và vòng benzen, thể hiện một loạt hoạt tính sinh học [1]. Các dẫn chất benzimidazol có mặt trong nhiều nhóm thuốc như thuốc trị đái tháo đường, ung thư, virus, sốt rét, các bệnh tim mạch, thần kinh, nội tiết, nhãn khoa [2], và đặc biệt là tác dụng kháng nấm kháng khuẩn [3-5]. Vì vậy mục tiêu của nghiên cứu này là tổng hợp các dẫn chất benzimidazol với các nhóm thế ở vị trí số 5 và các dẫn chất alkyl và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các chất tổng hợp.

## Nguyên liệu và phương pháp

### Nguyên liệu

### Nguyên liệu dùng trong tổng hợp

3,4-diaminotoluen, 1,2-phenylendiamin, 4-nitro-o-phenylendiamin, acid formic, benzyl bromid, 2-clorobenzyl-clorid, dicloromethan, aceton, ethyl acetat, cloroform.

### Nguyên liệu dùng trong kiểm nghiệm

Bản mỏng silica gel GF254 của Hãng Merck.

Các hệ dung môi: Hệ (A): aceton - hexan (45:55); hệ (B): ethyl acetat - hexan (7:3); hệ (C): cloroform - aceton (6:4); hệ (D): cloroform - ethanol (65:35) và hệ (E): dicloromethan - ethanol (6:4).

### Nguyên liệu thử vi sinh

Các chủng vi khuẩn dùng trong thử nghiệm: *Staphylococcus aureus*: MSSA (ATCC 26213), MRSA (ATCC 33591), *Streptococcus faecalis* ATCC 29212; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; *Escherichia coli* ATCC 35218.

Các chủng nấm dùng trong thử nghiệm: *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*.

Môi trường thử nghiệm: Tryptic Soy Agar, Tryptic Soy Broth, RPMI 1640.

### Dụng cụ và trang thiết bị

*Dụng cụ, trang thiết bị tổng hợp và tinh chế sản phẩm:* Cân Kern ABS-220-4, tủ hút LV-FH12A, máy khuấy từ gia nhiệt, cá từ, bếp điện, máy hút chân không, phễu Buchner, máy cô quay Stuart, tủ sấy Memmert xuất xứ Đức.

*Kiểm nghiệm sản phẩm:* Máy đo MS Shimadzu LCMS, máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker 500 MHz, máy UVD-2960 của Hãng Labomed, máy quang phổ hồng ngoại (Infrared Spectroscopy- IR) FTIR 8201 PC (SHIMADZU), sắc ký bản mỏng GF<sub>254</sub>, bình sắc kí, buồng soi UV ViberLourmart.

### Phương pháp nghiên cứu

Tổng hợp các chất theo sơ đồ sau:

---

Chịu trách nhiệm: Trương Phương  
Email: nguyetphuong1234@gmail.com  
Ngày nhận: 11/9/2020  
Ngày phản biện: 26/02/2021  
Ngày duyệt bài: 20/4/2021